# Versuche zur Abhängigkeit der circadianen Rhythmik von der Atmungskettenenergie bei Kalanchoe bloßfeldiana

Dissertation

zur

Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

der

Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

WALDTRAUT STEINHEIL

aus Nürnberg

1969

# Versuche zur Abhängigkeit der circadianen Rhythmik von der Atmungskettenenergie bei Kalanchoe bloßfeldiana

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Waldtraut Steinheil
aus Nürnberg
1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 9. Juli 1969

| | |
|---|---|
| Dekan: | Prof. Dr. A. Seilacher |
| 1. Berichterstatter: | Prof. Dr. E. Bünning |
| 2. Berichterstatter: | Prof. Dr. B. Schwemmle |

INHALT


| | Seite |
|---|---|
| EINLEITUNG | 1 |
| UNTERSUCHUNGSZIELE | |
| A. Atmungsrhythmik | 1 |
| B. Einfluß von Atmungsinhibitoren | 2 |
| VERWENDETE ABKÜRZUNGEN | 3 |
| MATERIAL UND METHODE | |
| 1. Vorbehandlung der Versuchspflanzen | 4 |
| 2. Registrierung der Blütenblattbewegungen | 4 |
| 3. Messung der Sauerstoff-Aufnahme | 6 |
| a) bei Blüten | |
| b) bei aus Blüten isolierten Mitochondrien | |
| 4. Verwendung der Atmungsinhibitoren | 7 |
| a) Inhibitorversuche bei der Blütenblatt-bewegung | |
| b) Inhibitorversuche beim $O_2$-Verbrauch | |
| AUSWERTUNG DER MESSERGEBNISSE | |
| 1. Blütenblattbewegungskurven | 8 |
| 2. Berechnung des Sauerstoffverbrauchs | 8 |
| 3. Statistik | 9 |
| ERGEBNISSE | |
| A. Sauerstoffaufnahme der Blüten | |
| a) Variation des $O_2$-Partialdrucks | |
| b) Änderung der Nährlösung | |
| B. Einfluß von Inhibitoren auf die Rhythmik der Blütenblattbewegungen | |
| 1. KCN | |
| a) Allgemeine Wirkungsweise von KCN | 11 |
| b) Einfluß von KCN auf die $O_2$-Aufnahme von Blüten und Mitochondrien bei Kalanchoe | 12 |
| c) Wirkung von KCN auf die Blütenblattbewegungen (Responsekurve) | 15 |
| d) Wirkung von $K^+$, $OH^-$ und $CN^-$ | 17 |

2. Natriumdiäthyldithiocarbaminat
a) Allgemeine Wirkungsweise 18
b) Wirkung auf die Blütenblattbewegung 18
3. Stickstoff
a) Allgemeine Wirkungsweise 19
b) Wirkung auf die Blütenblattbewegung 20
4. Naphthomycin und Patulin
a) Allgemeine Wirkungsweise 21
b) Wirkung auf Kalanchoeblüten (Atmung und Bewegung) 21
Tabelle 1: Wirkung verschiedener Substanzen auf die $O_2$-Aufnahme von Kalanchoeblüten 23
Tabelle 2: $O_2$-Aufnahme von Mitochondrien nach Zugabe von KCN und KCl 13
Tabelle 3: $O_2$-Aufnahme von Mitochondrien bei Dauereinwirkung von KCN und KCl 13
Tabelle 4: Zahlenwerte für das Auftreten der Öffnungsmaxima und die Abweichungen der Maxima von den Kontrollen bei den Blütenblattbewegungsversuchen 28
DISKUSSION 24
ZUSAMMENFASSUNG 33
LITERATUR 34

## EINLEITUNG

Die chemischen und physikalischen Grundlagen, die zum Auftreten einer circadianen Rhythmik führen, sind weitgehend unbekannt. Ein Untersuchungsweg ist die gezielte Störung der Rhythmik. Störungen durch Licht und Temperatur haben eine phasenspezifische Wirkung. Auch mit verschiedenen Stoffwechselgiften konnte die endogene Rhythmik nachhaltig beeinflußt werden (BALTES, 1964; FELDMANN, 1967; KARAKASHIAN u.HASTINGS, 1963 u.a.).

Aus Licht- und Temperaturversuchen ergab sich die Hypothese, daß der Energiebedarf der einzelnen Phasen der endogenen Tagesrhythmik verschieden groß sein muß. Bei Kalanchoeblüten soll während der Schließbewegung bis zum Öffnungsminimum der Energiebedarf zunehmen (Spannungsphase), vom Öffnungsminimum - dem für Licht störempfindlichsten Bereich - bis zum Öffnungsmaximum abnehmen (Entspannungsphase) (ZIMMER, 1962). Bei Phaseolus multiflorus und bei Kalanchoe bloßfeldiana konnten in verschiedenen Phasen unterschiedliche Wirkungen durch atmungsreduzierende Einflüsse festgestellt werden(BÜNNING et al., 1965).

In den vorliegenden Untersuchungen wird das Problem eines Zusammenhangs zwischen Atmung und circadianer Rhythmik erneut aufgegriffen.

## UNTERSUCHUNGSZIELE

### A. Atmungsrhythmik

Zuerst soll festgestellt werden, ob die Atmung selbst ein von der circadianen Rhythmik gesteuerter Vorgang ist. Die Kohlendioxidabgabe schwankt bei Kalanchoe tagesperiodisch (SCHMITZ,1951) Die $CO_2$-Abgabe ist hier jedoch kein eindeutiges Maß für die Atmung, da eine Koppelung mit anderen periodisch sich ändernden Prozessen nachgewiesen ist(KLUGE, 1968). Es soll deshalb

der Sauerstoffverbrauch von Kalanchoeblüten untersucht werden.

B.Einfluß von Atmungsinhibitoren

Eine bleibende Veränderung der meßbaren peripheren Rhythmik durch spezifische Inhibitoren wäre ein Hinweis auf einen engen Zusammenhang zwischen dem gestörten Stoffwechselprozeß und den Prozessen, die letztlich die Rhythmik bewirken.

Unter diesem Gesichtspunkt soll der Einfluß von Atmungsgiften untersucht werden: Kaliumcyanid (KCN) und Natriumdiäthyldithiocarbaminat (NaDDTC) mit ihrem Einfluß auf Fe- und Cu- haltige Oxidasen, das Antibioticum Naphthomycin (= Tü 105-A), das auf das Ubichinon-Co Q einwirkt, und das Antibioticum Patulin, dessen Angriffsort in der Atmungskette noch nicht eindeutig geklärt ist. Die Versuche der Sauerstoffverdrängung durch Stickstoff werden wiederholt (BÜNNING et al., 1965). (Einzelheiten zur Wirkungsweise der Inhibitoren werden unten beschrieben.)

Den Untersuchungen mit Inhibitoren liegt das Schema der Atmungskette für höhere Pflanzen nach W.D.BONNER zugrunde:

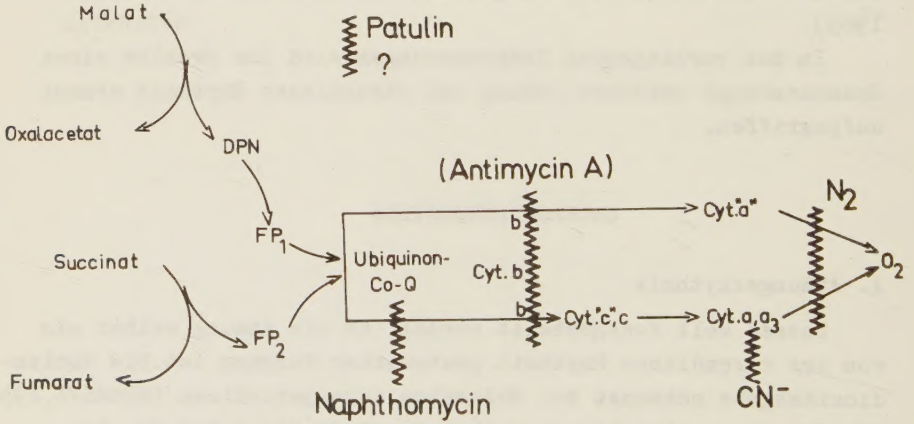



Abb.1: Atmungskette in Mitochondrien höherer Pflanzen nach BONNER (BONNER, 1967 p. 144). Das Schema ist etwas umgezeichnet und ergänzt durch den Wirkungsort ( ≷ ) der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Inhibitoren.

Normalerweise erfolgt der Elektronentransport vermutlich über die Cytochrome b, "c", c, a, $a_3$ zum Sauerstoff als Endacceptor. Ein zweiter Weg, der nicht durch $CN^-$ beeinflußt werden kann, geht möglicherweise über ein Cytochrom "a" oder über ein autoxidables Cytochrom b (BEEVERS, 1960; BONNER, 1967). Auch Flavinsysteme könnten bei der cyanidresistenten Atmung eine Rolle spielen (JAMES, 1953).

Bei der Beurteilung der Ergebnisse mit Inhibitoren ist zu beachten:

1. Der Inhibitor könnte auch an noch unbekannten anderen Stellen im Stoffwechsel eingreifen; die Spezifität ist nicht garantiert.
2. Die Atmung ist mit vielen anderen Stoffwechselprozessen gekoppelt. Eine Hemmung zieht eine "Reaktionskette" nach sich. Bei einer Wirkung auf die Rhythmik kann auch ein mit der Atmung gekoppelter Prozeß der entscheidende sein.

## VERWENDETE ABKÜRZUNGEN

Wenn nicht anders angegeben, werden die in der Rhythmikforschung üblichen Abkürzungen verwendet (ASCHOFF, KLOTTER u. WEVER, 1965):

LD: Periodischer Licht-Dunkel-Wechsel. In Klammer werden die Licht- und Dunkelzeiten in Stunden angegeben: (12:12)

LL: Dauerlicht

DD: Dauerdunkel. Bei der Registrierung der Blütenblattbewegung wurde die Testlichtbedingung $\lambda$ = 530 nm mit DD bezeichnet, da Licht dieser Wellenlänge auf die Rhythmik wie Dauerdunkel wirkt (KARVE et al., 1961).

$\varphi$: Phasenwinkel der biologischen Schwingung.

$\Delta\varphi$: Phasenverschiebung

Der Komplexbildner Natriumdiäthyldithiocarbaminat wird mit NaDDTC abgekürzt.

## MATERIAL UND METHODE

### 1. Vorbehandlung der Versuchspflanzen.

Versuchsobjekt war Kalanchoe bloßfeldiana (v.POELLN.), Stamm Göttingen.
Die Pflanzen wurden im Gewächshaus im LL (Tageslicht und Zusatzlicht von Osram-L-Fluora 40 W/77 Leuchtstoffröhren) in Einheitserde angezogen. Zur Blühinduktion im Kurztag (LD 8:16) wurden 5 bis 10 Monate alte Pflanzen verwendet. Die Synchronisation erfolgte mindestens 10 Tage vor Versuchsbeginn in Konstanträumen mit einem 12:12 LD-Wechsel bei 20 ± 0,5°C. Zur Synchronisation wurden ebenfalls Osram-L - Fluora 40 W/77 Leuchtstoffröhren verwendet. Die Lichtintensität betrug in Pflanzenhöhe etwa 2500 Lux. Eine Pflanzengruppe erhielt Licht von 8-20 Uhr, die andere von 21-9 Uhr. Die Verwendung von inversen LD-Zyklen ermöglichte es, daß ein großer Teil der Versuche tagsüber ausgeführt werden konnte.
Zu den Versuchen wurden die Einzelblüten von Kalanchoe verwendet. Die Blüten wurden unterhalb des Kelches abgeschnitten, stets zur gleichen Zeit, eine Stunde vor Änderung der Beleuchtungsphase, mindestens 12 Stunden vor Beginn der Gift- und Atmungsversuche. Der Zeitpunkt des Abschneidens fiel dabei in eine Phase, in der die Blüten weder ganz geschlossen, noch ganz offen waren (Abschneidezeit: 19-20 Uhr bzw. beim inversen Zyklus 20-21 Uhr in Grünlicht). Auf diese Weise konnten bewegungsfähige Blüten erkannt werden.
Bis zum Versuchsbeginn befanden sich dann die Blüten in 0,2 Mol Saccharoselösung bei 20 ± 0,5°C (ENGELMANN u.VIELHABEN, 1965).

### 2. Registrierung der Blütenblattbewegung.

Die Blütenblattbewegungen wurden photoelektrisch gemessen (ENGELMANN, unveröffentlicht).

Die Versuchsanordnung geht aus Abb.2 hervor:

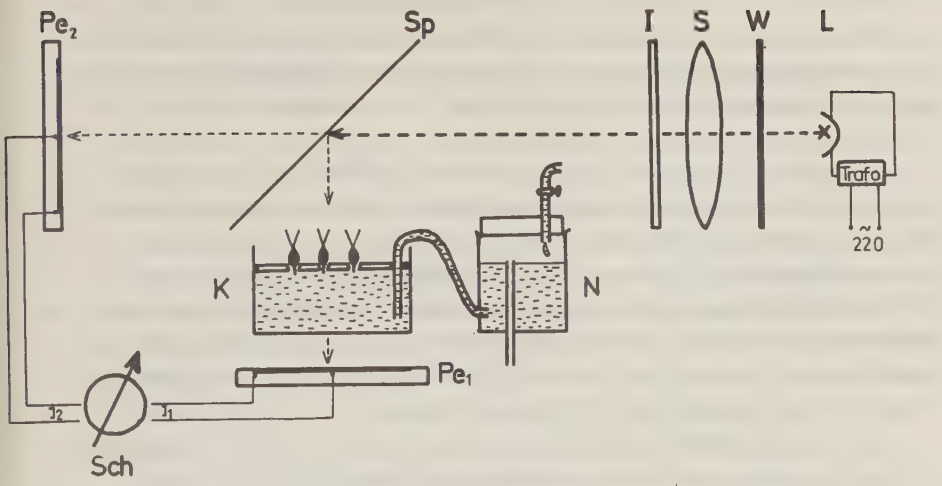



Abb.2: Schema der Versuchsanordnung: K Testküvette mit Blüten in einer perforierten, schwimmenden Plexiglasscheibe; N Niveaugefäß; L Niedervoltlampe mit Parabolreflektor (Osram 58.8113); W Wärmefilter $KG_1$ (Schott); S Sammellinse; I Interferenzfilter, $\lambda$ = 530 nm (Schott); Sp halbdurchlässiger Spiegel; Pe Selenphotoelemente (N 0,67, Falkenthal und Presser) mit aufliegenden Polarisationsfolien zum Verändern der Lichtintensität; Sch Kompensations-Mehrfachpunktdrucker (Polycomp, Hartmann und Braun). Es wird der Quotient aus den Strömen $I_1$ und $I_2$ registriert, um Schwankungen der Lichtquelle zu eliminieren.

Die Registrierung erfolgte über 5 bis 7 Tage bei 20 ± 0,5°C mit annähernd quantengleichem Grünlicht (300 erg/cm$^2$.sec). Verwendet wurden Interferenzfilter Typ DAL mit einer maximalen Durchlässigkeit bei 530nm (Fa.Schott, Mainz). Für die Versuche wurde Grünlicht als konstante Bedingung gewählt, da die Dämpfung bei Grünlicht geringer ist als bei Rotlicht. Die Lage der Extrempunkte der Bewegungskurven ist unabhängig von der Lichtqualität (KARVE et al., 1961).

Als Bewegungskurve wurde eine Mittelwertkurve von 20 Einzelblüten registriert. Die 20 Blüten einer Küvette stammten von mehreren Pflanzen. Die Blüten einer Pflanze wurden auf alle 6 zur Verfügung stehenden Registrierküvetten verteilt, um eine möglichst große Einheitlichkeit zu erreichen.

3. Messung der Sauerstoff-Aufnahme.

Der Sauerstoffverbrauch von Blüten und von aus Blüten isolierten Mitochondrien wurde manometrisch gemessen. Es wurde der Warburgapparat Typ V 166 mit den Gefäßen Typ NS 14,5 (Fa. Braun, Melsungen) verwendet.

a) Blüten: Jeweils 5 Blüten wurden in das die Testlösung enthaltende Mittelgefäß so eingestellt, daß die Blütenblattbewegung noch möglich war. Zur $CO_2$-Absorption wurde 30%ige KOH im Hauptgefäß benützt. Gearbeitet wurde bei Grünlicht, 21°C Wasserbadtemperatur, ohne Schütteln. Luftdruck- und Temperaturschwankungen wurden, wie üblich, durch ein Thermobarometer ausgeglichen. Die Ablesung erfolgte alle ein bis zwei Stunden über mindestens 24 Stunden hinweg.

b) Mitochondrien: Die Isolierung erfolgte nach der Methode von Verleur mit geringen Abänderungen (VERLEUR, 1965; vgl. auch HOCK, 1966). Gearbeitet wurde bei 0°C. Homogenisiert wurden 100 Blüten in einem eisgekühlten Virtis-Homogenisator 20 Sekunden lang bei hoher Geschwindigkeit in 20 ml Homogenisiermedium (0,1 Mol K-Phosphatpuffer; 0,5 Mol Mannitol; 0,01 Mol $Na_2$-EDTA; pH 7,5). Von dem durch Gaze filtrierten Homogenat wurden die Grobteile bei 500 x g abzentrifugiert (5 min.). Der Überstand wurde bei 5000 x g zentrifugiert (15 min.), und die Mitochondrien als Sedimentationsfraktion nachgewiesen. Nach erneutem Zentrifugieren bei 5000 x g wurde der nun "gewaschene" Rückstand mit den Mitochondrien aus ca 100 Blüten mit 10 ml Homogenisiermedium für den Aktivitätstest aufgenommen.

Getestet wurde die Cytochrom c:$O_2$-Oxidoreduktase. Diese oxidiert Ascorbinsäure in Gegenwart von Cytochrom c. Durch Zugabe von Ascorbat und Cytochrom c als Substrat werden die anderen Enzyme der Atmungskette umgangen.

Inhalt des Warburg-Reaktionsgefäßes:

Mittelgefäß: 0,2 Mol KOH, 30%ig

Hauptraum: 0,5 ml K-Phosphatpuffer pH 7,4; 0,15 ml $4 \cdot 10^{-3}$ Mol $AlCl_3$; 0,5 ml $10^{-4}$ Mol Cytochrom c; 0,15 ml 0,114 Mol K-Ascor-

bat; 0,1 ml Mitochondriensuspension.
Die Messung erfolgte bei 30°C Wasserbadtemperatur mit Schütteln der Gefäße. Der Sauerstoffverbrauch konnte etwa 2 Stunden lang gemessen werden.

4. Verwendung der Atmungsinhibitoren.
Für die Versuche wurden analysenreine Substanzen benützt.

| Substanz | Lösungsmittel | Bezugsquelle |
|---|---|---|
| KCN, KCl, NaCN $CH_3COOK$, KOH, $C_5H_{10}NNaS_2 \cdot 3H_2O$ | 0,2 Mol Saccharoselösung | Merck, Darmstadt |
| Patulin | 0,2 Mol Saccharoselösung | Inst.für Biol. Abt.Mikrobiologie, Tübingen [1] |
| Naphthomycin (=Tü 105-A) | 0,01 Mol K-Phosphatpuffer pH 7,0. Pufferansatz mit 0,2 Mol Saccharoselösung | Inst.für Biologie Abt.Mikrobiologie, Tübingen [1] |
| Antimycin A | 95% Äthanol (Mindestmenge zum Lösen), verdünnt mit 0,01 Mol K-Phosphatpuffer pH 7,1. Pufferansatz mit 0,2 Mol Saccharoselösung | Serva Entwicklungslabor, Heidelberg |
| L-(+)-Ascorbinsäure | 0,1 Mol KOH | Merck, Darmstadt |
| Cytochrom c (Pferdeherz) | 0,01 Mol K-Phosphatpuffer pH 7,4 | Serva Entwicklungslabor, Heidelberg |

Die Sauerstoff - Stickstoffgemische wurden nach der Methode von UMBREIT hergestellt (UMBREIT et al., 1951). Verwendet wurden Gase von Industriereinheitsgrad.

[1] Herrn Prof.Dr. Zähner und Herrn H.Wolf danke ich für die Antibiotica.

a) Inhibitorversuche bei der Blütenblattbewegung:
Bei Verwendung der gelösten Reagentien (KCN u.a.) wurde für die Dauer der Einwirkung die Plexiglasscheibe mit den Blüten in die temperaturgleiche Testlösung gesetzt. Bevor die Blüten in die Registrierküvette zurückgebracht wurden, wurde die Scheibe kurz mit $H_2O$ dest. gespült.
Die $N_2$-Begasung wurde in einem mit $N_2$ durchströmten 7,5 l Behälter vorgenommen. In den ersten 10 Minuten betrug die Strömungsgeschwindigkeit des Stickstoffs etwa 5 l/min., später weniger. Die Gastemperatur wurde auf 20 $\pm$ 0,7°C gehalten. Während der Begasung befanden sich die Blüten, wie bei der Registrierung, in Saccharoselösung.

## AUSWERTUNG DER MESSERGEBNISSE

1. Blütenblattbewegungskurven:

Die Öffnung-Maxima und -Minima der Blüten konnten mit einem geschätzten Fehler von $\pm$ 0,5 Stunden ausgemessen werden, in den ersten Perioden genauer. Da bei den Minima die Streuung etwas größer ist, wurden für die Beurteilung der Ergebnisse im allgemeinen die Maxima verwendet.
Die Amplituden ändern sich jahresperiodisch. Dazu kommen verschiedene Variablen der Testapparatur (Empfindlichkeit der Photoelemente u.a.). Ein Amplitudenvergleich ist deshalb nur in sehr begrenztem Umfang möglich.

2. Berechnung des Sauerstoffverbrauchs:

Die Sauerstoffberechnungen wurden nach der Warburgformel ausgeführt:

$$O_2\text{- Verbrauch} = h \cdot \frac{(V_m + V_g - V_F - V_{Bl}) \cdot \frac{To}{T} + V_F \cdot \alpha}{P_o}$$

Vm Manometervolumen; $V_g$ Gefäßvolumen; $V_F$ Flüssigkeitsvolumen; $V_{Bl}$ Blütenvolumen (Berechnung aus dem Frischgewicht und dem einmalig aus 150 Blüten bestimmten Spezifischen Gewicht $\gamma$ = 0,77 p/cm³); $T_o$ 273°K; T 273+t (t= Versuchstemperatur in °C); $\alpha$ Bunsenscher Koeffizient (0,029 für 21°C, 0,0901 für 30°C); h Druckdifferenz (mm Brodisäule), korrigierter Wert; $P_o$ 10 000 (10 000 mm Brodi = 760 mm $H_g$).

3. Statistik:

Die Stichprobenstandardabweichung (Streuung der Meßwerte) wurde berechnet nach:

$$s = \pm \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$x_i$ i-tes Element der Stichprobe. Bei den Meßwerten der Blütenblattbewegung entspricht $x_i$ dem Wert eines Versuchs, d.h. dem Mittelwert aus 20 Blüten; $\bar{x}$ Arithmetischer Stichprobenwert; n Stichprobenumfang.

Zur Absicherung der Ergebnisse wurde der verteilungsfreie U-Test von WILCOXON, MANN u. WHITNEY (SACHS, 1968) verwendet, da eine Normalverteilung nicht mit genügender Sicherheit angenommen werden kann.

## ERGEBNISSE

### A. Sauerstoffaufnahme der Blüten

Der $O_2$-Verbrauch von in 0,2 Mol Saccharoselösung stehenden Kalanchoeblüten beträgt 2,15 $\pm$ 0,98 µl $O_2$/Einzelblüte·h ( $\hat{=}$ 0,77 $\pm$ 0,39 µl $O_2$/mg Trockengewicht·h). Geringe Schwankungen während des Tageslaufs sind feststellbar. Eine Periodizität ist jedoch nicht zu erkennen:

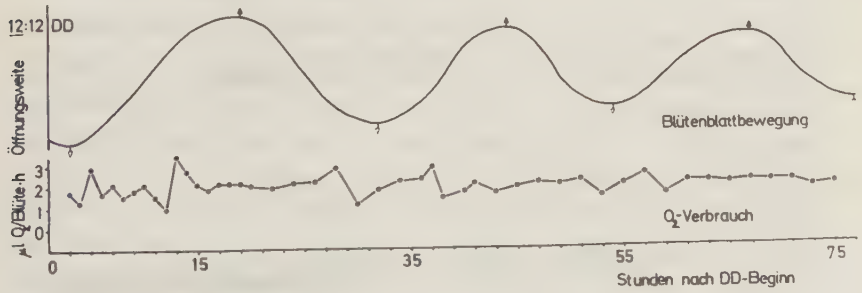



Abb. 3: Untere Kurve: Beispiel für die $O_2$-Aufnahme einer Blüte in 0,2 Mol Saccharoselösung bei ca 20% $O_2$ (Luft). Obere Kurve: entsprechende Bewegungskurve der Blütenblätter.

Theoretisch besteht die Möglichkeit, daß die $O_2$-Rhythmik maskiert ist:

a) Eine Änderung des $O_2$-Partialdrucks könnte an die für das Auftreten einer Sauerstoffrhythmik kritische Grenze führen.

b) Die Art der Nährlösung, in der sich die Blüten befinden, kann auf das Auftreten periodischer Schwankungen Einfluß haben.
SCHÖN konnte bei Hydrodictyon eine Sauerstoff-Rhythmik feststellen, wenn die Alge in Wasser gehalten wurde. Wurde Glucose als Medium benützt, trat keine Rhythmik auf (SCHÖN, 1955).

Weder Versuche mit verändertem $O_2$-Partialdruck noch mit verändertem Nährmedium lassen jedoch eine Tagesperiodizität erkennen:

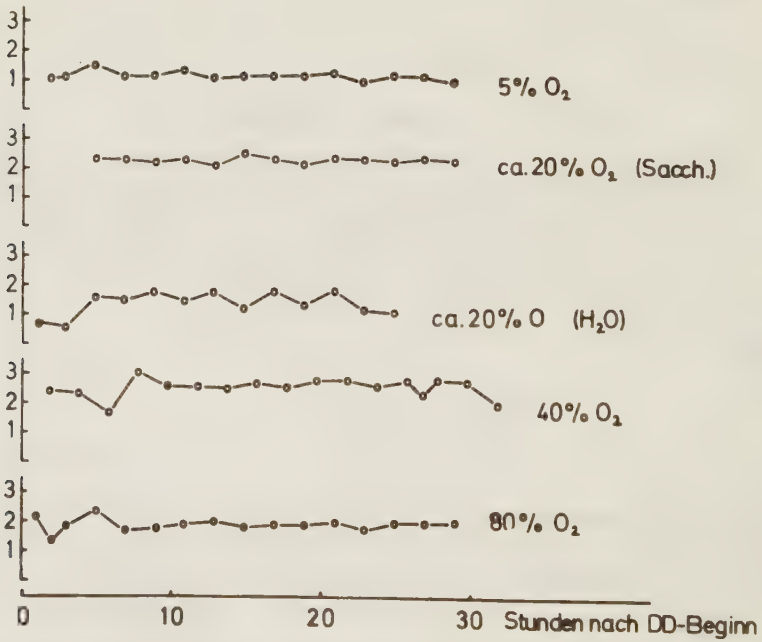



Abb.4: Beispiel für die $O_2$Aufnahme von Blüten bei unterschiedlichem $O_2$-Partialdruck in 0,2 Mol Saccharoselösung oder $H_2O$ dest.
Ordinate: µl $O_2$/Einzelblüte·h

Die durchschnittliche $O_2$-Aufnahme ist bei den Versuchen mit einem Gemisch aus 5% $O_2$ und 95% $N_2$ geringer als bei Verwendung von Luft (ca 20% $O_2$; vgl. Tabelle 1, Seite 23).
Bei einer 20%, 40% und 80% $O_2$ enthaltenden Gasatmosphäre ist der $O_2$-Verbrauch etwa gleich groß. Die $O_2$-Aufnahme von Kalanchoeblüten, die in 0,2 Mol Saccharoselösung stehen, ist etwa doppelt so hoch wie von Blüten in $H_2O$ dest. (In $H_2O$ dest.: 59 $\pm$ 12,9% der "Saccharosekontrolle"). Damit wird ein Indiz für die Vermutung geliefert, daß die mit dem Wasser aufgenommene Saccharose einen Einfluß auf den Energiehaushalt der Pflanze und damit auf die Nachschwingungen der Blütenblattbewegungen hat ENGELMANN, VIELHABEN, 1966). Ein Hinweis auf eine maskierte Sauerstoffrhythmik ist jedoch nicht gegeben.

Besteht dennoch ein Zusammenhang zwischen Atmung und endogener Rhythmik? Hat eine Reduktion der Atmung durch Inhibitoren und Sauerstoffentzug Einfluß auf die Tagesperiodik? Pulsexperimente mit atmungsreduzierenden Reagentien könnten Hinweise geben.

## B. Einfluß von Inhibitoren auf die Rhythmik der Blütenblattbewegung

### 1. Kaliumcyanid

a) Allgemeine Wirkungsweise von KCN:

KCN beeinflußt die Aktivität von einigen Enzymen, die als Cofaktoren oder aktive Gruppen vor allem Schwermetalle oder Carbonylgruppen enthalten (Liste der durch $CN^-$ gehemmten Enzyme in: DIXON u. WEBB, 1964). Die meisten Beobachtungen gründen sich auf Versuche in vitro. Besonders empfindlich für Cyanid sind Cytochrom c: $O_2$-Oxidoreduktase, Katalase und Peroxidase. Deshalb wird $CN^-$ häufig generell als Atmungsinhibitor bezeichnet.

Cyanid wirkt auf die Atmung bei Pflanzen - im Gegensatz zu Tieren - nicht immer in gleicher Weise.
Reaktionstypen (vgl. BONNER, 1967):

1. Die Atmung wird vollständig gehemmt.
2. Die Hemmung beträgt maximal 50%.
3. Keine Hemmung, u.U. Steigerung der Atmungsrate.
4. Die Reaktionen 1 bis 3 können im gleichen Gewebe zu verschiedenen Zeiten beobachtet werden (Alterungserscheinung?).

b) Einfluß von KCN auf die $O_2$-Aufnahme von Blüten und Mitochondrien bei Kalanchoe.

Der Sauerstoffverbrauch von Blüten in 0,15 Mol KCN-Lösung - gemittelt über 24 Stunden - ist, verglichen mit der Kontrolle, um etwa 30% herabgesetzt. Bei einer 0,0015 Mol KCN-Lösung kann kein eindeutiger Einfluß festgestellt werden (Tabelle 1, Seite 23).

Bei höheren Pflanzen müssen für Inhibitorexperimente im allgemeinen höhere Konzentrationen als bei Mikroorganismen verwendet werden. Je spezifischer ein Inhibitor wirkt, desto geringer ist die notwendige Konzentration.
Es wurde der $O_2$-Verbrauch von aus Kalanchoeblüten isolierten Mitochondrien geprüft, um festzustellen, ob die wirksame KCN-Konzentration am "Bestimmungsort", d.h. bei den Mitochondrien, kleiner als 0,15 Mol sein kann.
Das Ergebnis ist überraschend (vgl. Tabelle 2 Seite 13 und Abb. 5 Seite 14). Eine eindeutige Erhöhung des $O_2$-Verbrauchs nach Zugabe von KCN ist festzustellen, obgleich die Atmung der Mitochondrien gegen Versuchsende (2. Versuchshälfte) normalerweise (ohne KCN) etwas abnimmt.
Der Kontrollversuch mit KCl zeigt keine signifikante Änderung der Atmungsrate.

Bei einer länger andauernden Einwirkung von 0,15 Mol KCN auf die Mitochondrien erfolgt nach einer anfänglich stark gesteigerten Atmung (ca 1 Stunde andauernd) eine sehr rasche Abnahme des $O_2$-Verbrauchs (vgl.Tabelle3,Seite 13).

Bei Kontrollversuchen mit KCl und Saccharose bleibt auch hier die $O_2$-Aufnahme etwa konstant. Eine KCN-Konzentration von $0{,}15 \cdot 10^{-3}$ Mol bleibt ohne Einfluß.

Tabelle 2:

$O_2$-Aufnahme von Mitochondrien in Anwesenheit von KCN und KCl

| Testsubstanz | Konzentration (Mol) | $O_2$-Aufnahme % der Kontrolle ± s | Anzahl der Versuche |
|---|---|---|---|
| KCN | 0,15 | 408,5 ± 179,1 | 9 |
| KCN | $0{,}15 \cdot 10^{-2}$ | 211,4 ± 40,2 | 5 |
| KCl | 0,15 | 95,4 ± 13,4 | 7 |

Die Zugabe von KCN und KCl erfolgte nach 50 Minuten, in der 2. Versuchshälfte. Die Ergebnisse der 1. Versuchshälfte werden als Kontrolle benützt. Pipettierungsfehler u.a. werden dadurch, daß jedes Warburggefäß ein unabhängiges Ergebnis liefert, ausgeschlossen.

Tabelle 3:

$O_2$-Aufnahme von Mitochondrien bei Dauereinwirkung von KCN und KCl

| Testsubstanz | Konzentration (Mol) | $O_2$-Aufnahme % der Kontrolle ± s | Anzahl der Versuche |
|---|---|---|---|
| KCN | 0,15 | 14,9 ± 19,5 | 7 |
| KCN | $0{,}15 \cdot 10^{-3}$ | 103,2 ± 47,8 | 6 |
| KCl | 0,15 | 111,9 ± 12,3 | 5 |
| Saccharose | 0,2 | 98,2 ± 47,5 | 7 |

Die Testsubstanz wirkt während der ganzen Versuchsdauer auf die Mitochondrien ein. Der $O_2$-Verbrauch in der 1. Versuchshälfte (50 Minuten) bildet den Bezugswert (100%), die Kontrolle.

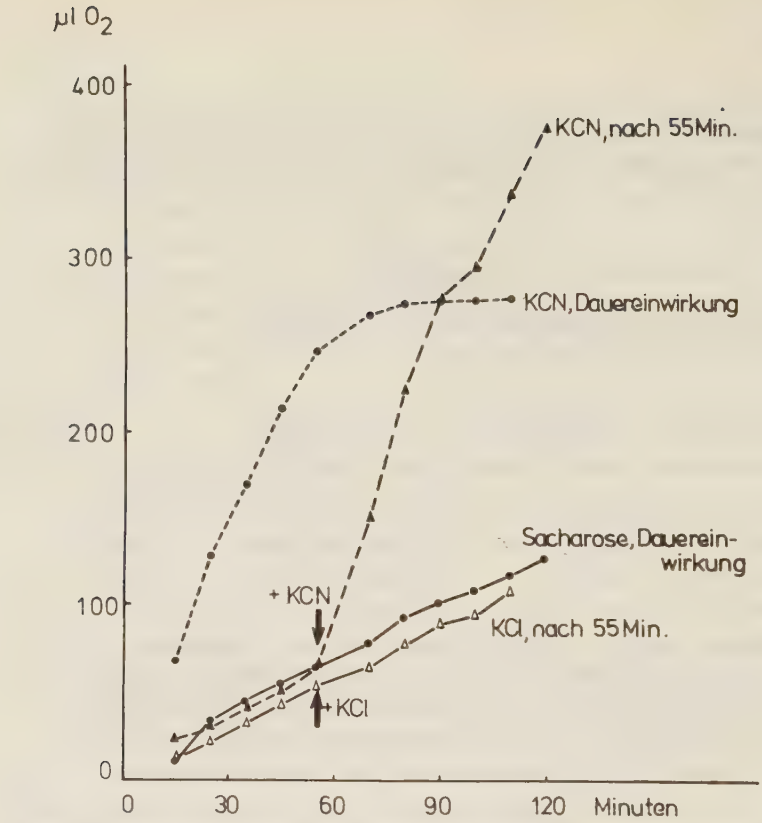



Abb.5: $O_2$-Verbrauch von Mitochondrien (beispielhafte Einzelkurven).
Ordinate: µl $O_2$/0,1 ml Mitochondriensuspension.

●———● Saccharoselösung (0. bis 120.Min.)
●— — —● 0,15 Mol KCN (0. bis 110.Min.).
Δ———Δ Saccharoselösung (0. bis 55.Min.); Zugabe von 0,15 Mol KCl nach 55 Minuten (55. bis 110.Min.).
▲— — —▲ Saccharoselösung (0. bis 55.Min.); Zugabe von 0,15 Mol KCN nach 55 Minuten (55. bis 120.Min.).

Die KCN-Versuche mit intakten Blüten deuten darauf hin, daß es sich um den KCN-Reaktionstyp 2(Seite 12) handelt, die Mitochondrien-Versuche weisen auf Typ 3. Die hohe KCN-Konzentration läßt vermuten, daß der Inhibitor nicht sehr spezifisch ist, und daß die Wirkung auf die $O_2$-Aufnahme möglicherweise eine sekundäre Erscheinung ist.

c) Wirkung von KCN auf die Blütenblattbewegung:

Versuche mit verschiedenen KCN-Konzentrationen - 0,0015 Mol, 0,077 Mol, 0,15 Mol, 0,31 Mol - jeweils zur gleichen Phase geprüft, ergaben eine zunehmende Verzögerung der Bewegung (Tabelle 4, Seite 28). Bei 0,0015 Mol ist die Verzögerung gegen die Kontrolle nicht signifikant. Für die Pulsversuche (kurzzeitige Inhibitoreinwirkung) wurde die Konzentration von 0,15 Mol gewählt. Bei einer zweistündigen Behandlung ist keine Schädigung der Blüten erkennbar.

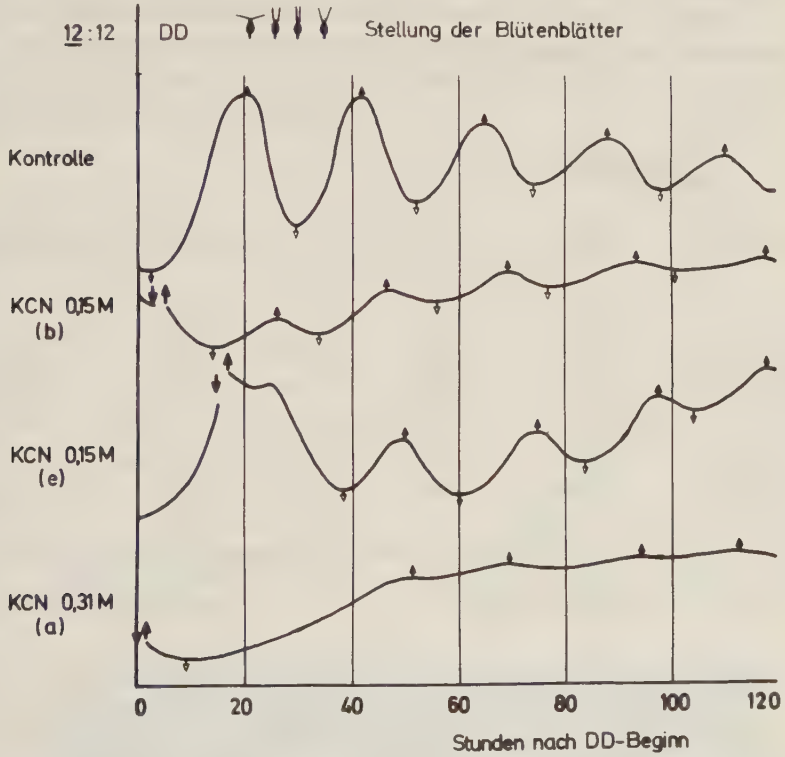



Abb.6: Beispiele für Blütenblattbewegung im DD nach 12:12 LD
Ordinate: Relative Öffnungsweite der Blüten.
▲ Öffnungsmaximum, ▽ Öffnungsminimum
KCN-Einwirkung (▽▲) b: 3-5, e: 15-17, a: 0-2 Stunden nach DD-Beginn.

Der annähernd harmonische Verlauf der Blütenblattbewegung ist nach der KCN-Behandlung in der direkt folgenden Periode

etwas gestört: Nach Gifteinwirkung zu der Zeit, zu der normalerweise das 1. Öffnungsminimum zu erwarten ist, tritt das 1. Minimum stark verspätet auf (b). Die KCN-Behandlung in der 2. Hälfte der Öffnungsbewegung (e) führt zu einer Unterbrechung und Umkehr der Bewegungsrichtung. Auffällig ist dabei die Schulterbildung, die als verspätetes Auftreten des Maximums gedeutet werden könnte.
Die Amplituden sind im allgemeinen kleiner als die der Kontrollen.

Abb. 7 zeigt eine Zusammenstellung der Wirkung von zweistündiger KCN-Behandlung auf die Blütenblattbewegung:

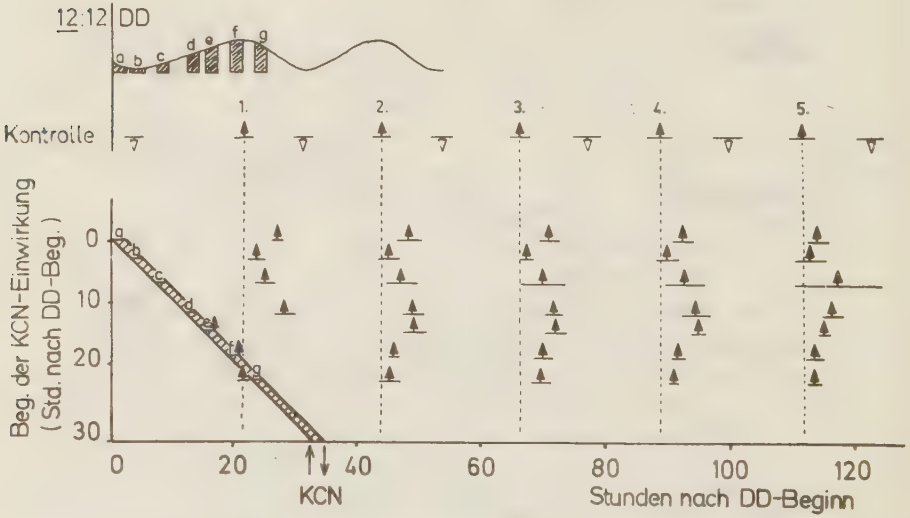



Abb.7: Lage der Maxima (▲) nach einer zweistündigen KCN-Einwirkung ( ▨ ) während der Nachschwingung im DD (Vorbehandlung 12 : 12). Die senkrechten, gestrichelten Linien bezeichnen die Lage der Maxima der Kontrolle. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) der Abweichungen der Maxima von der Kontrolle des jeweiligen Versuchs mit ihrer Standardabweichung $\pm$ s. Die beiden schrägen Linien stellen Anfang und Ende der Giftbehandlung dar. In der oben gezeichneten Bewegungskurve sind die Phasen der Gifteinwirkung nochmals angegeben.

Nach der KCN-Behandlung treten alle Maxima (2. bis 5.) im Vergleich zur Kontrolle verzögert auf. Die Größe der Verzögerung ist abhängig vom Zeitpunkt der Giftgabe: größte Verzögerung zum Zeitpunkt e (Abb.7) in der Blütenöffnungsphase (KCN 15-17 Std. nach DD-Beg.),geringste Verzögerung zum Zeitpunkt b im Bereich des Öffnungsminimums (KCN 3-5 Std. nach DD-Beg.).
Im 4. Maximum ("steady state") unterscheiden sich die extremen Punkte der Responsekurve signifikant (a von b, b von e und e von g) ($\alpha = 0{,}001$).

Um zu sichern, daß die phasenverschiebende Wirkung durch das Cyanidion verursacht ist, wurden Kontrollversuche mit anderen Substanzen durchgeführt:

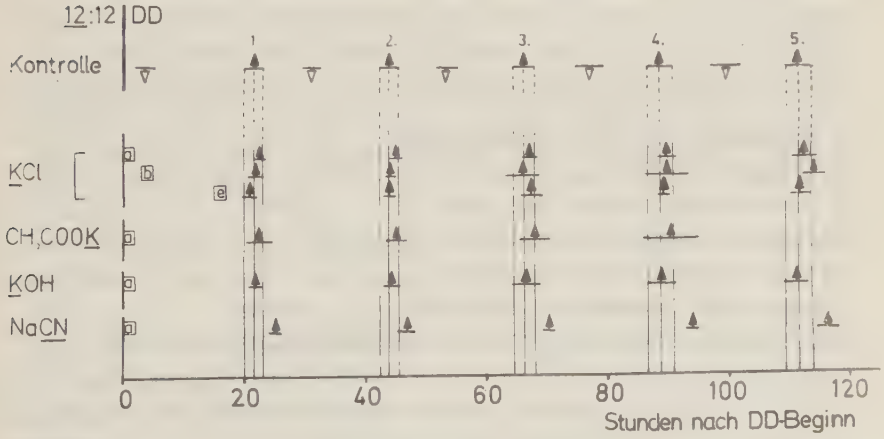



Abb. 8: Lage der Maxima (▲) nach zweistündiger Behandlung mit verschiedenen Chemikalien während der Nachschwingung im DD (Vorbehandlung 12:12). Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) der Abweichungen von der Kontrolle des jeweiligen Versuchs mit ihrer Standardabweichung. Die Mittelwerte der Maxima der Dunkelkontrolle mit ihrer Standardabweichung ($\pm$ s) sind durch senkrechte Linien gekennzeichnet.
Zeitpunkt und Dauer der Behandlung (vgl. Abb.7): a: 0-2, b: 3-5, e: 15-17 Std. nach DD-Beginn.

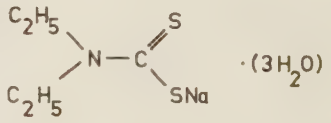
Nach den Versuchen mit KCl und $CH_3COOK$ ist eine durch $K^+$ verursachte Phasenverschiebung gegen die Kontrolle nicht absicherbar. Der hohe pH, den 0,15 Mol KCN-Lösungen haben, scheint nicht Ursache für die phasenverschiebende Wirkung von KCN zu sein. Eine Behandlung mit KOH entsprechender Basizität hat keinen Einfluß auf die Rhythmik. Der Versuch mit NaCN zeigt dagegen, wie bei KCN, eine eindeutige konstante Phasenverschiebung nach der Behandlung.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß wohl keine spezifische Wirkung des Cyanidions auf die Cytochromoxidase vorliegt (vgl. Mitochondrienversuche , geringe Hemmwirkung auf die $O_2$-Aufnahme der Blüten und hohe $CN^-$ Konzentration bei der Beeinflussung der Bewegungsrhythmik). Die phasenunterschiedliche Empfindlichkeit der Bewegungsrhythmik für $CN^-$ kann nicht als Indiz für einen Zusammenhang zwischen endogener Rhythmik und Atmung gewertet werden. Es wurden deshalb noch Versuche mit vier weiteren Inhibitoren durchgeführt.

2. Natriumdiäthyldithiocarbaminat

a) Allgemeine Wirkungsweise:

Das Reagenz dient zur Unterscheidung zwischen Fe- und Cu-haltigen pflanzlichen Oxidasen in vivo. Als Cu-haltige Oxidasen sind die Phenoloxidase und die Ascorbinsäureoxidase bekannt, wobei NaDDTC für letztere relativ spezifisch sein soll (JAMES, 1953). Eine Wirkung von NaDDTC auf andere schwermetallhaltige Enzyme kann nicht ausgeschlossen werden, ebenso wie ein Einfluß von durch die Instabilität von NaDDTC bedingten Zerfallsprodukten.



NaDDTC

b) Wirkung von NaDDTC auf die Blütenblattbewegung:

Aus Abb.9 geht hervor, daß $10^{-2}$Mol NaDDTC bei zweistündiger Einwirkung keine signifikante Phasenverschiebung bewirkt:

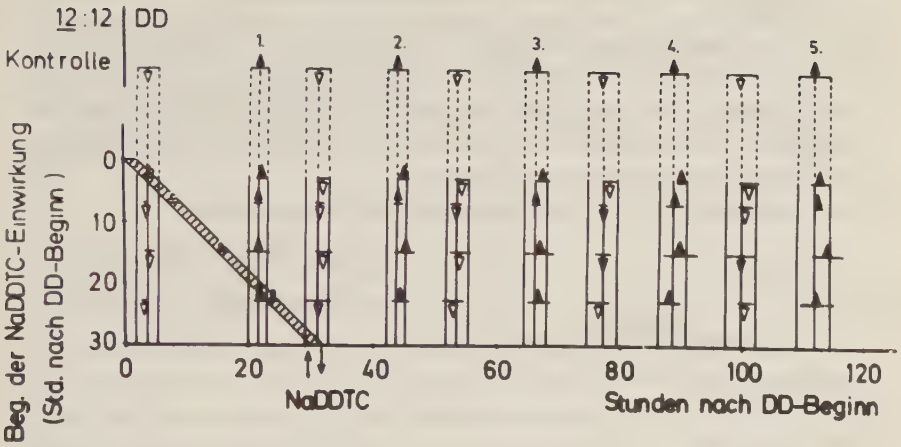



Abb.9: Lage der Maxima (▲) und Minima (▽) nach zweistündiger Behandlung mit NaDDTC (▨) während der Nachschwingung im DD. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) der Abweichungen von der Kontrolle des jeweiligen Versuchs mit ihrer Standardabweichung +s. Die Mittelwerte der Extremwerte der Dunkelkontrolle mit ihrer Standardabweichung sind durch die senkrechten Linien gekennzeichnet.

Ein Einfluß von NaDDTC zeigt sich lediglich darin, daß die Amplituden nach der Behandlung im Vergleich zur Kontrolle kleiner sind. Da die Atmung selbst durch NaDDTC nicht beeinflußt wird (vgl. Tabelle 1, Seite 23), ist zu vermuten, daß die Cu-haltigen Oxidasen bei der Atmung und der Bewegungs - rhythmik von Kalanchoeblüten keine Rolle spielen.

3. Stickstoff

a) Allgemeine Wirkungsweise von $N_2$:

Die Atmung wird durch $N_2$ insofern blockiert, als der $H^+$-Acceptor fehlt. Der Elektronentransport wird abgestoppt. Die Atmungspigmente liegen in reduzierter Form vor.

b) Wirkung von $N_2$ auf die Blütenblattbewegung:

In einem Gasgemisch von 95% $N_2$ und 5% $O_2$ beträgt die $O_2$-Aufnahme der Blüten noch etwa 58% der Kontrolle. Es wurde deshalb darauf geachtet, daß die Luft im Behandlungsraum anfangs möglichst rasch durch eine größere Strömungsgeschwindigkeit des Stickstoffs verdrängt wurde.
Der Einfluß auf die Bewegungsrhythmik ist gering:

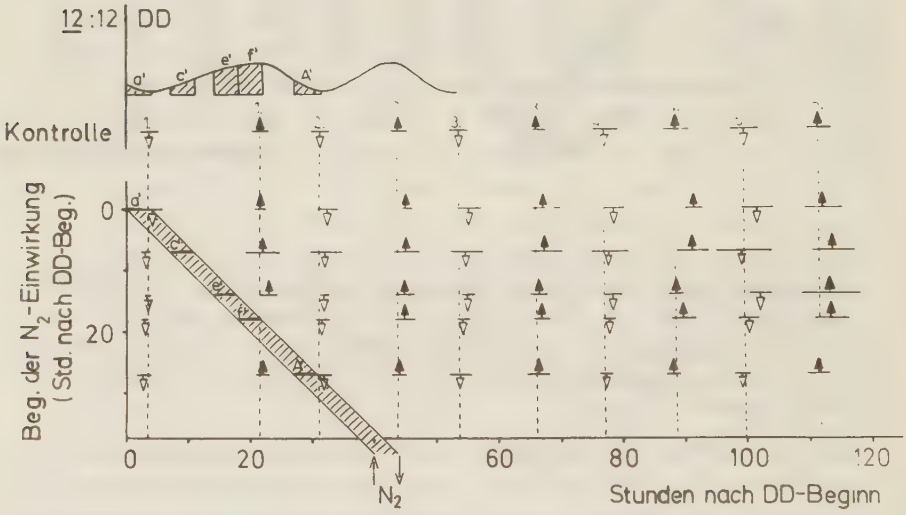



Abb.10: Lage der Maxima ( ▲ ) und Minima ( ▽ ) nach einer vierstündigen $N_2$-Einwirkung ( ▨ ) während der Nachschwingung im DD (Vorbehandlung 12:12). Die senkrechten, gestrichelten Linien bezeichnen die Lage der Maxima und Minima der Kontrolle. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) der Abweichungen der Maxima und Minima von der Kontrolle des jeweiligen Versuchs mit der Standardabweichung ($\pm s$). Die beiden schrägen Linien stellen Anfang und Ende der Begasung dar. In der oben gezeichneten Bewegungskurve sind die Phasen der $N_2$-Behandlung nochmals angegeben.

Nach vierstündiger Einwirkung von $N_2$ tritt in jeder der 5 getesteten Bewegungsphasen in der ersten Periode eine geringe Periodenverlängerung auf (0,5 bis 1,5 Std.). Die Phasenverschiebung bleibt, bei Berücksichtigung der zunehmenden

Streuung, in etwa erhalten. Die geringen Unterschiede bei $N_2$-Begasung zu verschiedenen Zeiten sind mit dem U-Test nicht absicherbar. Die Verschiebungen zeigen jedoch alle eine gemeinsame Richtung (Verzögerung).

Ein ähnliches Ergebnis brachten die Versuche mit Naphthomycin und Patulin.

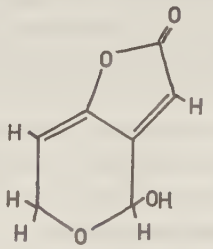
4. Naphthomycin und Patulin

a) Allgemeine Wirkungsweise:

Naphthomycin (Tü 105-A), ein Derivat des 2-Hydroxy-1,4-naphtho-chinons, wirkt, nach den noch nicht sehr umfangreichen Untersuchungen, verhältnismäßig spezifisch auf das Chinon-Hydrochinon-System der Atmungskette ein (BALERNA, 1968 ; WOLF, 1968).

Patulin hemmt die Atmung bei Bakterien, Pilzen, Gehirnhomogenat, zellfreien Extrakten von Claviceps purpurea u.a. Der Angriffsort im terminalen Elektronentransportsystem ist noch nicht eindeutig geklärt.

Daneben wurden cytologische Effekte beobachtet: Hemmung der Zellwandbildung, Störung der Mitose, Änderung der Zellmembranpermeabilität für $K^+$ und Glucose (SINGH, 1967).



Patulin

b) Wirkung auf Kalanchoeblüten:

Der Sauerstoffverbrauch wird durch 0,15 Mol Patulin um etwa 36%, durch 0,0015 Mol um etwa 18% herabgesetzt. Bei Naphthomycin, 0,0015 Mol, beträgt die Hemmung nur etwa 12% (Tabelle 1, Seite 23).
Die Beeinflussung der Rhythmik veranschaulicht Abb.11:

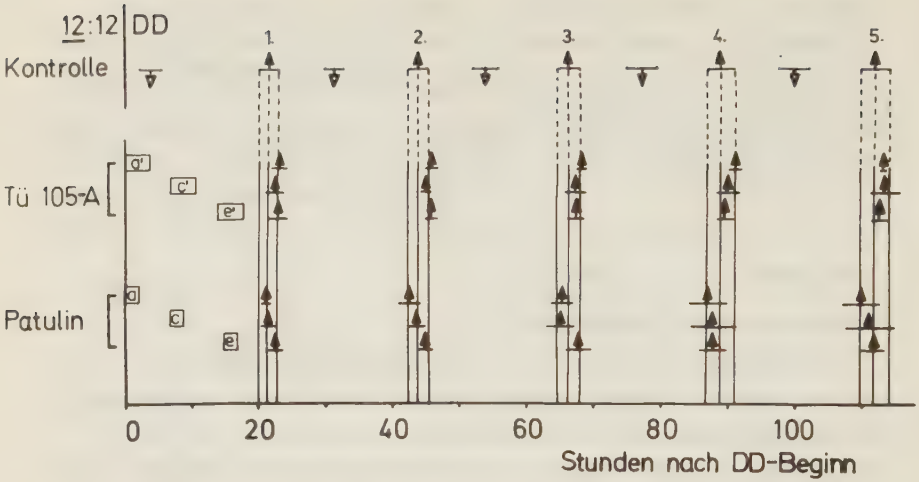



Abb. 11: Lage der Maxima ( ▲ ) nach Behandlung mit Tü 105-A und Patulin während der Nachschwingung im DD (Vorbehandlung 12:12). Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) der Abweichungen von der jeweiligen Kontrolle des Versuchs mit der Standardabweichung ±s. Die Mittelwerte der Maxima der Dunkelkontrolle mit ihrer Standardabweichung sind durch die senkrechten Linien gekennzeichnet.
Einwirkungszeit: a: 0-2, a': 0-4, c: 7-9, c': 7-11, e': 14-18 Stunden nach DD-Beginn.

Eine vierstündige Einwirkung von $0{,}15 \cdot 10^{-2}$ Mol Naphthomycin bewirkt, wie bei $N_2$, in allen geprüften Phasen eine geringe Phasenverschiebung, die bis zum letzten gemessenen Maximum (5.) etwa bestehen bleibt.

Die Behandlung mit 0,15 Mol Patulin betrug 2 Stunden. Bei vierstündiger Einwirkung verlieren die Blüten in der 2. Periode ihre Bewegungsfähigkeit, ohne daß irgendwelche äußere Schäden sichtbar werden. Die Phasenverschiebung der Öffnungsmaxima gegenüber den Kontrollen ist auch hier nicht absicherbar, sodaß ein positiver Effekt auf die Rhythmik ausgeschlossen werden muß.

Tabelle 1:

Die Wirkung verschiedener Substanzen auf die Sauerstoffaufnahme von Kalanchoeblüten.

| Substanz | Vermutlicher Angriffsort in der Atmungskette | Konzentration | $O_2$-Aufnahme % der Kontrolle ±s | Versuchszahl n |
|---|---|---|---|---|
| KCN | Cytochromoxidase | 0,15 Mol | 71,7 ± 11,3 | 5 |
| | | $0{,}15 \cdot 10^{-2}$ Mol | 105,7 ± 16,8 | 4 |
| Patulin | ? | 0,15 Mol | 63,8 ± 11,5 | 7 |
| | | $0{,}15 \cdot 10^{-1}$ Mol | 81,8 ± 7,7 | 4 |
| NaDDTC | Cu-haltige | 0,15 Mol | 96,2 ± 11,8 | 5 |
| | Oxidasen | $10^{-2}$ Mol | 105,5 ± 10,5 | 6 |
| Tü 105-A | Co-Q | $0{,}15 \cdot 10^{-2}$ Mol | 87,8 ± 9,2 | 5 |
| Antimycin (A) | Cytochrom b/c | $0{,}7 \cdot 10^{-3}$ Mol | 92,0 ± 13,6 | 6 |
| $N_2$ | terminaler Elektronenacceptor | 95% $N_2$ + 5% $O_2$ | 57,8 ± 4,4 | 4 |
| $H_2O$ dest. | - | - | 59,0 ± 12,9 | 4 |
| KCl | - | 0,15 Mol | 93,1 ± 18,6 | 3 |

Kontrolle: $O_2$-Verbrauch von Blüten in 0,2 molarer Saccharoselösung bei einem $O_2$-Partialdruck von ca 20% $O_2$.
Lösungsmittel für die verwendeten Substanzen: wie bei den Versuchen zur Beeinflussung der Bewegungsrhythmik.
Die $O_2$-Aufnahme wurde für den prozentualen Vergleich auf Einzelblüten bezogen. Bei Bezug auf das Trockengewicht wurden Werte in der gleichen Größenordnung erhalten.
Versuchsdauer: 24 Stunden. Die Blüten zeigten danach noch keine Schäden. Die Atmung war noch gut registrierbar.
n=1: Durchschnittswert aus 5 Einzelblüten.

## DISKUSSION

Die Versuche mit $N_2$, Naphthomycin und Patulin, ebenso wie die fehlende $O_2$-Aufnahmerhythmik weisen in die gleiche Richtung:

a) Die Energieversorgung über die Atmungskette unterliegt keinen rhythmischen Schwankungen.

b) Die Atmung ist kein limitierender Faktor für die endogene Rhythmik.

Eine $O_2$-Aufnahmerhythmik, bei Tieren selbstverständlich, ist bei Pflanzen kaum bekannt. BROWN fand eine Sauerstoffrhythmik bei Kartoffeln, Karotten und Fucus (BROWN et al., 1955). Der endogene Charakter ist dabei jedoch durch die auffallende Korrelation der Schwingung zu den Luftdruckschwankungen nahezu ausgeschlossen. SCHÖN stellte bei Hydrodictyon tagesperiodische Änderungen in der $O_2$-Aufnahme fest (SCHÖN, 1955). Seine Versuche mit verschiedenen LD-Wechseln zeigen aber, daß die Rhythmik im DD oder LL nicht freilaufend ist, sondern genau den Rhythmus der Vorbehandlung zeigt.

Die in der Literatur beschriebenen Atmungsrhythmen beziehen sich meist auf die $CO_2$-Abgabe (SCHMITZ, 1951 u.a.). Da die $CO_2$-Abgabe, zumindest bei Crassulaceen, in enger Beziehung zum Säurestoffwechsel steht (KLUGE, 1968), hat sie für die Konstanz des "Energiespiegels" der Zellen wohl weniger Aussagekraft als die $O_2$-Aufnahme.

Die Ergebnisse der Stickstoffversuche stimmen mit den Versuchen von WILKINS und WARREN insoweit überein, als bei den Avena-Koleoptilen ebenfalls keine völlig unempfindliche Phase für $N_2$ auftritt (WILKINS u.WARREN, 1963). Die Verzögerung der Wachstumsrhythmik bei den Koleoptilen ist jedoch stärker als bei der Bewegungsrhythmik von Kalanchoe-blüten.

Etwas in Widerspruch zu meinen Ergebnissen stehen die $N_2$-Versuche und ihre Deutung von VIELHABEN: Die Blütenblattbewegungen von Kalanchoe zeigten bei $N_2$-Behandlung kurz vor dem Öffnungsmaximum eine maximale Verzögerung von 4 Stunden, bei $O_2$- Verdrängung kurz vor dem Minimum keine Beeinflussung

der Bewegung(BÜNNING et al., 1965).
In Abb.12 sind die etwas voneinander abweichenden Versuchsergebnisse nochmals dargestellt:

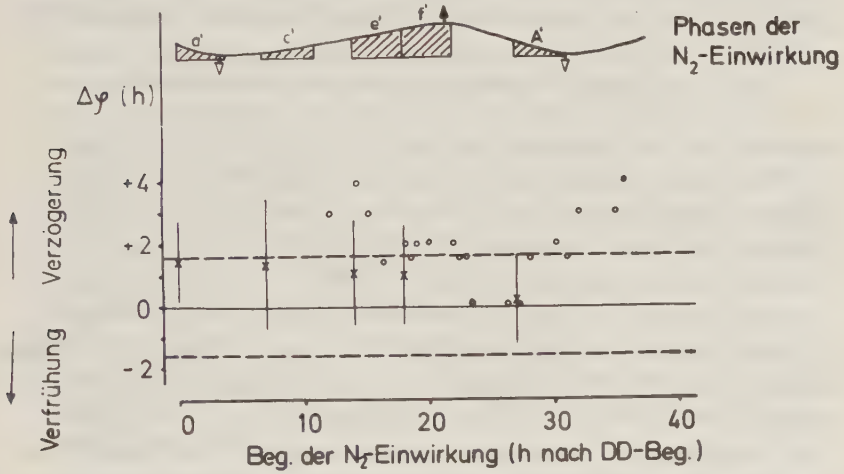



Abb.12: Phasenverschiebung ($\Delta\varphi$) des 2. Maximums nach einer vierstündigen $N_2$-Begasung während der Nachschwingung im DD. Angegeben sind die Abweichungen des 2.Maximums vom 2. Maximum der Kontrolle des jeweiligen Versuchs mit der Standardabweichung (±s). Streuung der Kontrollen (±s): gestrichelte Linien parallel zur Abscisse.
∘ Werte von VIELHABEN (BÜNNING et al., 1965). Vorbehandlung 9:16, Temperatur nicht konstant (Gewächshaus).
× Neue Werte (STEINHEIL). Vorbehandlung 12:12, 20±0,5°C.
Die Zeit der $N_2$-Einwirkung geht aus der darüber gezeichneten Bewegungskurve hervor.

Meine Meßwerte ( × ) unterscheiden sich voneinander nicht signifikant ($\alpha$ = 0,05). Auch die Abweichung von der Kontrolle ist nach dem U-Test nicht absicherbar ($\alpha$ = 0,05). Es kann nur festgestellt werden, daß $N_2$ in allen Bewegungsphasen eine geringe, in die gleiche Richtung weisende Verzögerung bewirkt. Wie sich zeigt, liegen die Werte von VIELHABEN ( ∘ ) fast im Bereich der Streuung der neuen Meßwerte. Erklärungen für die Differenzen könnten die etwas unterschiedliche Vorbehandlung und die Beachtung der Temperaturkonstanz bei der $N_2$-Begasung sein.
Nach den Werten von VIELHABEN scheint, nach der Spannungs-Entspannungstheorie unerwartet, das Minimum den geringsten

Energiebedarf zu haben. Nach meinen Versuchen ist ein unterschiedlicher Energiebedarf nicht abzusichern.
Versuche von BRINKMANN mit Euglena zeigten, daß die Phasenlage der Dunkelbeweglichkeit mixotropher Kulturen durch Dauerbegasung mit $N_2$ nicht verändert wird. Bei autotrophen Kulturen ist eine Phasenverschiebung nicht absicherbar (BRINKMANN, 1966).

Mit Patulin und Naphthomycin wurden bisher keine, die endogene Rhythmik betreffenden Versuche durchgeführt. Die Effekte auf die endogene Rhythmik sind nicht signifikant.

Die KCN-Versuche sind nicht in gleicher Weise interpretierbar wie die anderen durchgeführten Experimente. Eine unterschiedliche Phasenempfindlichkeit ist eindeutig. Ein vergleichbares Ergebnis erhielt KURRAS bei Phaseolus multiflorus: Im Bereich der größten Blattsenkung ( ≙ Öffnungs - minimum von Kalanchoeblüten) hat KCN die geringste, 8 Stunden später, kurz vor dem Maximum der Blatthebung, den größten Effekt (BÜNNING et al., 1965). Auffällig ist jedoch, daß die "qualitative" Wirkung völlig anders ist: Bei Phaseolus kommt es zu einer, bis zur 4. Periode zunehmenden Ver - kürzung der Perioden, während die Bewegung bei Kalanchoe sofort eine konstante Verzögerung aufweist.
Phasenverschiebungen mit KCN erhielten auch HASTINGS bei der Leuchtrhythmik von Gonyaulax und TAKATORI bei der Mitose in Vicia-Wurzelspitzen (HASTINGS, 1960; TAKATORI, 1966). BÜHNEMANN fand, daß bei Dauereinwirkung von $2{,}1 \cdot 10^{-2}$ Mol KCN die Sporulationsrhythmik von Ödogonium zwar kurzzeitig unterbrochen werden kann, und die sporogene Stimmung für die späteren Perioden etwas gesteigert wird, daß aber keine Phasenverschiebung auftritt. Er schloß daraus auf eine weitgehende Energieunabhängigkeit der endogenen Rhythmik(BÜHNEMANN, 1955).
Bei allen diesen Versuchen wurde der Effekt von KCN auf die Atmung oder einen anderen Stoffwechselvorgang nicht speziell geprüft. Da, wie die Mitochondrienversuche bei Kalanchoe zeigen, eine direkte Hemmung der Atmung durch KCN nicht vorliegt, bleibt die Frage offen, wo die Ursache für die phasenverschiebende Wirkung des Inhibitors zu suchen ist.

Die Versuche mit NaDDTC sind insofern aufschlußreich,

als sie nicht zum gleichen Ergebnis wie die KCN-Versuche führen. Bei Phaseolus hatte sich eine weitgehende Übereinstimmung der Responsekurven von KCN und NaDDTC ergeben (BROMMER, 1968). Die geringe Wirksamkeit von NaDDTC auf Atmung und Bewegung von Kalanchoeblüten läßt vermuten, daß Cu-haltige Oxidasen, ebenso wie andere schwermetallhaltige Enzyme, mit denen NaDDTC eine Verbindung eingeht, keine wesentliche Rolle für die Rhythmik bei Kalanchoe spielen.

Die Hypothese, daß sich mögliche Schwankungen im Energiebedarf der "inneren Uhr" nicht darin auswirken, daß das gesamte Energieniveau einer tagesperiodischen Rhythmik unterworfen ist, wird durch Untersuchungen von BRINKMANN wesentlich gestützt. BRINKMANN konnte bei alten, autotrophen Euglenakulturen keine Schwingung von ATP, Pyruvat und Glucose-6-Phosphat feststellen. Diese für den Energiehaushalt der Zellen wesentlichen Poolgrößen zeigten keine Änderung im Verlauf eines Tages (BRINKMANN, 3301 Stöckheim, unveröffentlicht).

Abschließend möchte ich nochmals herausstellen, daß bei Kalanchoe weder ein Einfluß der circadianen Rhythmik auf die Atmung ($O_2$-Aufnahme) noch umgekehrt eine phasenspezifische Abhängigkeit der circadianen Rhythmik von der Atmungskette festzustellen ist. Da bisher in einzelnen herausgegriffenen Vorgängen der Zelle (RNS-Synthese, Photosynthese, einzelne Enzymaktivitäten u.a.) keine echten Anhaltspunkte für die Ursachen der endogenen Rhythmik gefunden wurden, muß das Rätsel der "inneren Uhr" wohl ener in einem Zusammenwirken sehr vieler Einzelprozesse gesucht werden, die durch Koordination gegen Störungen von außen weitgehend unempfindlich sind.

Tabelle 4: Blütenblattbewegungen ( Öffnungsmaxima )

a. Auftreten der Maxima (Stunden nach DD-Beginn)
b. Abweichung der Maxima von der Kontrolle des jeweiligen Versuchs (Stunden)

n: Anzahl der Versuche $\bar{x}$: Mittelwert s: Standardabweichung

| Behandlung: Substanz | Einwirkungsdauer, Std. nach DD-Beg. | | 1. Max. a. | 1. Max. b. | 2. Max. a. | 2. Max. b. | 3. Max. a. | 3. Max. b. | 4. Max. a. | 4. Max. b. | 5. Max. a. | 5. Max. b. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Saccharose (Kontrolle) | Dauereinwirkung | n | 76 | | 75 | | 76 | | 71 | | 66 | |
| | | $\bar{x}$ | 21,5 | - | 43,9 | - | 66,3 | - | 88,8 | - | 111,7 | - |
| | | s | 1,5 | | 1,5 | | 1,8 | | 2,1 | | 2,6 | |
| KCN 0,0015 Mol | 0-2 | n | 5 | 5 | 6 | 6 | 6 | 6 | 4 | 3 | 5 | 3 |
| | | $\bar{x}$ | 23,1 | 0,8 | 45,6 | 0,7 | 69,4 | 1,6 | 92,8 | 1,2 | 116,5 | 2,1 |
| | | s | 1,1 | 1,8 | 1,0 | 1,2 | 2,0 | 2,2 | 1,6 | 1,6 | 2,8 | 2,3 |
| KCN 0,077 Mol | 0-2 | n | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 5 | 5 | 5 | 2 |
| | | $\bar{x}$ | 23,0 | 0,8 | 46,5 | 1,9 | 70,2 | 2,6 | 94,4 | 1,2 | 118,0 | 5,5 |
| | | s | 1,2 | 1,2 | 0,7 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,3 | 1,8 | 1,2 | 2,1 |
| KCN 0,15 Mol | 0-2 | n | 5 | 5 | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 | 9 | 9 |
| | | $\bar{x}$ | 26,6 | 5,6 | 48,2 | 4,7 | 70,4 | 4,7 | 92,6 | 3,6 | 114,8 | 2,6 |
| | | s | 1,5 | 0,9 | 2,3 | 2,1 | 2,4 | 1,7 | 2,1 | 1,8 | 2,1 | 1,8 |
| | 3-5 | n | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 7 | 7 |
| | | $\bar{x}$ | 25,2 | 2,1 | 47,4 | 1,2 | 70,1 | 1,1 | 92,1 | 1,1 | 116,0 | 1,3 |
| | | s | 1,4 | 1,4 | 1,3 | 1,8 | 0,6 | 1,1 | 1,4 | 2,0 | 3,4 | 2,6 |
| | 7-9 | n | 9 | 9 | 7 | 7 | 9 | 9 | 8 | 8 | 5 | 4 |
| | | $\bar{x}$ | 26,4 | 3,5 | 48,6 | 3,3 | 70,6 | 3,8 | 92,6 | 3,9 | 114,8 | 5,8 |
| | | s | 1,6 | 1,8 | 2,0 | 2,6 | 1,9 | 3,6 | 2,1 | 3,1 | 3,5 | 7,2 |

| Substanz | Einwirkungs-dauer, Std. nach DD-Beg. | | 1. Max. a. | 1. Max. b. | 2. Max. a. | 2. Max. b. | 3. Max. a. | 3. Max. b. | 4. Max. a. | 4. Max. b. | 5. Max. a. | 5. Max. b. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| KCN 0,15 Mol | 12-14 | n | 16 | 16 | 12 | 12 | 12 | 12 | 10 | 10 | 8 | 8 |
| | | $\bar{x}$ | 14,8 | -6,7 | 48,6 | 5,4 | 70,8 | 5,5 | 93,9 | 5,6 | 116,6 | 4,7 |
| | | s | 2,0 | 1,7 | 1,7 | 1,9 | 1,5 | 1,5 | 2,5 | 2,3 | 2,1 | 1,6 |
| | 15-17 | n | 7 | 7 | 7 | 7 | 6 | 6 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| | | $\bar{x}$ | 17,0 | -4,3 | 50,0 | 5,5 | 73,6 | 6,0 | 96,1 | 6,3 | 117,4 | 3,5 |
| | | s | 0 | o,6 | 1,4 | 1,8 | 1,7 | 1,7 | 1,1 | 1,3 | 1,2 | 1,0 |
| | 19-21 | n | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | | $\bar{x}$ | 21,0 | -2,1 | 46,3 | 2,0 | 70,9 | 3,8 | 92,1 | 2,8 | 115,3 | 2,1 |
| | | s | 0 | 0,6 | 1,2 | 0,9 | 1,5 | 1,6 | 2,2 | 1,1 | 2,2 | 1,5 |
| | 23-25 | n | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 8 | 8 |
| | | $\bar{x}$ | 21,6 | 0,2 | 46,1 | 1,3 | 71,4 | 3,4 | 93,8 | 1,8 | 116,4 | 1,9 |
| | | s | 1,1 | 1,0 | 1,2 | 1,8 | 2,2 | 1,7 | 1,8 | 0,8 | 1,7 | 1,3 |
| | 36-38 | n | 7 | 7 | 6 | 6 | 4 | 4 | 6 | 6 | 5 | 5 |
| | | $\bar{x}$ | 21,1 | 0,0 | 43,1 | 0,3 | 71,2 | 5,2 | 95,2 | 5,5 | 119,8 | 7,7 |
| | | s | 1,0 | 1,3 | 4,8 | 4,9 | 0,9 | 0,9 | 1,9 | 1,2 | 1,8 | 1,6 |
| | 38-40 | n | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | $\bar{x}$ | 20,6 | 1,3 | 42,0 | -1,0 | 68,1 | 2,9 | 91,1 | 2,6 | 114,3 | 3,7 |
| | | s | 0,4 | 0,7 | 0,8 | 0,1 | 1,4 | 1,5 | 0,4 | 0,3 | 0,9 | 1,4 |
| NaCN 0,15 Mol | 0-2 | n | 5 | 5 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | | $\bar{x}$ | 25,0 | 3,5 | 46,5 | 2,8 | 69,1 | 4,0 | 91,3 | 5,3 | 113,5 | 4,7 |
| | | s | 1,0 | 1,0 | 0,9 | 1,4 | 1,1 | 1,0 | 1,3 | 1,1 | 1,6 | 1,7 |
| KOH pH 10,7 | 0-2 | n | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 4 | 4 |
| | | $\bar{x}$ | 22,1 | 0,2 | 44,5 | 0,3 | 67,5 | 0,3 | 89,7 | 0,1 | 11,3 | -0,4 |
| | | s | 2,6 | 1,6 | 2,0 | 1,3 | 2,0 | 2,4 | 3,7 | 2,3 | 3,8 | 2,0 |
| $CH_3COOK$ 0,15 Mol | 0-2 | n | 7 | 7 | 8 | 8 | 9 | 9 | 7 | 7 | 4 | 4 |
| | | $\bar{x}$ | 22,1 | 0,9 | 44,8 | 1,2 | 67,2 | 1,9 | 88,6 | 1,8 | 111,4 | 3,0 |
| | | s | 2,7 | 2,5 | 1,9 | 1,6 | 3,6 | 2,6 | 4,9 | 4,7 | 5,9 | 7,2 |

| Substanz | Einwirkungs-dauer, Std. nach DD-Beg. | | 1. Max. a. | 1. Max. b. | 2. Max a. | 2. Max b. | 3. Max a. | 3. Max b. | 4. Max. a. | 4. Max. b. | 5. Max. a. | 5. Max. b. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| KCl 0,15 Mol | 0-2 | n | 10 | 10 | 11 | 11 | 8 | 8 | 9 | 9 | 8 | 8 |
| | | $\bar{x}$ | 22,7 | 1,1 | 45,1 | 1,5 | 67,5 | 1,1 | 90,4 | 1,2 | 112,8 | 1,0 |
| | | s | 1,5 | 1,0 | 1,0 | 0,9 | 1,9 | 1,3 | 3,2 | 1,5 | 3,7 | 1,9 |
| | 3-5 | n | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 4 | 2 | 2 |
| | | $\bar{x}$ | 22,1 | 0,5 | 43,8 | 0,5 | 67,0 | -0,1 | 89,4 | 1,3 | 112,8 | 2,8 |
| | | s | 1,3 | 1,2 | 0,9 | 1,0 | 2,4 | 2,9 | 2,5 | 3,7 | 1,8 | 1,8 |
| | 15-17 | n | 11 | 11 | 12 | 7 | 12 | 12 | 12 | 7 | 12 | 7 |
| | | $\bar{x}$ | 20,9 | -0,5 | 44,1 | 0,3 | 66,7 | 1,5 | 90,0 | 0,6 | 113,4 | 0,4 |
| | | s | 1,6 | 1,3 | 1,6 | 1,1 | 1,8 | 1,9 | 2,5 | 1,0 | 3,3 | 1,8 |
| $N_2$ | 0-4 | n | 10 | 10 | 10 | 10 | 8 | 8 | 7 | 5 | 5 | 5 |
| | | $\bar{x}$ | 22,0 | 0,9 | 44,7 | 1,3 | 67,2 | 1,3 | 90,0 | 3,0 | 110,4 | 0,8 |
| | | s | 1,3 | 0,3 | 1,7 | 1,5 | 3,1 | 2,9 | 2,0 | 1,7 | 3,5 | 3,3 |
| | 7-11 | n | 12 | 12 | 10 | 10 | 11 | 11 | 8 | 8 | 7 | 5 |
| | | $\bar{x}$ | 22,1 | 0,4 | 45,4 | 1,4 | 69,0 | 1,5 | 90,0 | 2,9 | 111,1 | 2,3 |
| | | s | 1,9 | 2,9 | 1,3 | 2,1 | 1,8 | 3,0 | 2,7 | 2,7 | 4,5 | 3,6 |
| | 14-18 | n | 6 | 6 | 7 | 7 | 7 | 7 | 6 | 6 | 4 | 4 |
| | | $\bar{x}$ | 23,4 | 1,5 | 45,2 | 1,1 | 68,4 | 0,3 | 89,8 | 0,0 | 114,5 | 1,9 |
| | | s | 1,5 | 1,5 | 1,0 | 1,7 | 1,4 | 1,6 | 1,1 | 1,3 | 2,1 | 5,0 |
| | 18-22 | n | | | 12 | 12 | 13 | 13 | 13 | 13 | 12 | 12 |
| | | $\bar{x}$ | - | - | 43,9 | 1,0 | 66,9 | 0,9 | 89,8 | 1,1 | 112,9 | 2,0 |
| | | s | | | 0,9 | 1,6 | 1,1 | 1,4 | 2,0 | 1,9 | 2,4 | 2,9 |
| | 27-31 | n | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 | 10 | 8 | 10 | 8 |
| | | $\bar{x}$ | 22,0 | 0,6 | 44,6 | 0,2 | 66,5 | 0,0 | 89,0 | -0,5 | 111,9 | -0,3 |
| | | s | 1,6 | 1,1 | 2,4 | 1,4 | 2,1 | 1,8 | 2,0 | 1,2 | 1,8 | 1,9 |

| Substanz | Einwirkungs-dauer, Std. nach DD-Beg. | | 1. Max. a. | 1. Max. b. | 2. Max. a. | 2. Max. b. | 3. Max. a. | 3. Max. b. | 4. Max. a. | 4. Max. b. | 5. Max. a. | 5. Max. b. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tü 105A 0,0015 Mol | 0-4 | n | 6 | 6 | 6 | 6 | 5 | 5 | 6 | 6 | 3 | 2 |
| | | $\bar{x}$ | 22,4 | 1,9 | 45,2 | 2,3 | 67,9 | 2,0 | 90,7 | 2,3 | 113,4 | 1,5 |
| | | s | 1,5 | 1,2 | 0,6 | 0,7 | 0,4 | 0,6 | 0,6 | 1,0 | 0,4 | 0,4 |
| | 7-11 | n | 12 | 12 | 8 | 8 | 10 | 10 | 8 | 8 | 10 | 10 |
| | | $\bar{x}$ | 22,9 | 1,1 | 44,7 | 1,3 | 65,6 | 1,0 | 86,0 | 1,1 | 109,7 | 1,6 |
| | | s | 1,1 | 1,2 | 1,1 | 0,6 | 1,6 | 1,7 | 2,5 | 2,6 | 3,0 | 2,3 |
| | 14-18 | n | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| | | $\bar{x}$ | 22,2 | 1,7 | 45,5 | 2,3 | 67,1 | 1,4 | 88,6 | 0,7 | 111,0 | 0,9 |
| | | s | 1,2 | 1,4 | 0,6 | 0,9 | 0,8 | 1,2 | 1,8 | 1,0 | 1,8 | 1,0 |
| Patulin 0,15 Mol | 0-2 | n | 10 | 9 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |
| | | $\bar{x}$ | 21,5 | -0,3 | 42,8 | -1,0 | 65,5 | -0,6 | 87,1 | -1,6 | 109,8 | -1,6 |
| | | s | 1,3 | 1,5 | 1,0 | 1,4 | 0,9 | 1,7 | 1,5 | 3,0 | 2,9 | 2,8 |
| | 7-9 | n | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 8 | 11 | 11 | 9 | 9 |
| | | $\bar{x}$ | 23,2 | 1,0 | 44,3 | 0,0 | 65,5 | -1,0 | 88,1 | -0,8 | 112,5 | -0,4 |
| | | s | 1,5 | 1,2 | 1,2 | 1,3 | 1,6 | 2,1 | 2,6 | 3,4 | 2,1 | 2,0 |
| | 15-17 | n | 15 | 15 | 14 | 14 | 10 | 9 | 12 | 12 | 12 | 10 |
| | | $\bar{x}$ | 22,5 | 1,2 | 44,4 | 1,1 | 67,5 | 1,6 | 90,1 | -1,0 | 112,9 | 0,1 |
| | | s | 1,2 | 1,2 | 1,4 | 1,0 | 1,5 | 1,8 | 1,4 | 2,0 | 2,8 | 1,5 |
| NaDDTC 0,01 Mol | 3-5 | n | 12 | 12 | 9 | 9 | 8 | 8 | 9 | 9 | 5 | 5 |
| | | $\bar{x}$ | 20,7 | 0,5 | 41,9 | 1,1 | 63,3 | 1,3 | 84,3 | 1,3 | 106,3 | 1,2 |
| | | s | 1,0 | 0,8 | 0,8 | 0,7 | 1,1 | 0,8 | 1,2 | 0,8 | 1,5 | 1,5 |
| | 7-9 | n | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | | $\bar{x}$ | 20,4 | 0,1 | 41,7 | 0,4 | 63,5 | 0,1 | 85,3 | 0,3 | 106,9 | 0,7 |
| | | s | 0,7 | 0,7 | 0,6 | 0,7 | 0,8 | 0,8 | 1,1 | 1,4 | 0,8 | 0,7 |

| Substanz | Einwirkungs-dauer, Std. nach DD-Beg. | | 1. Max. a. | 1. Max. b. | 2. Max. a. | 2. Max. b. | 3. Max. a. | 3. Max. b. | 4. Max. a. | 4. Max. b. | 5. Max. a. | 5. Max. b. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| NaDDTC 0,01 Mol | 15-17 | n | 10 | 4 | 10 | 10 | 8 | 8 | 5 | 5 | 4 | 4 |
| | | $\bar{x}$ | 21,0 | 0,0 | 43,3 | 1,4 | 67,3 | 1,1 | 90,1 | 1,2 | 112,0 | 2,4 |
| | | s | 1,7 | 1,8 | 1,4 | 1,5 | 2,8 | 2,3 | 2,5 | 2,8 | 1,8 | 2,5 |
| | 23-25 | n | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 6 | 6 | 5 | 5 |
| | | $\bar{x}$ | 20,9 | 0,5 | 42,6 | 0,9 | 66,1 | 0,7 | 86,1 | -0,4 | 109,5 | 0,6 |
| | | s | 1,1 | 0,9 | 1,4 | 1,2 | 3,9 | 1,9 | 2,3 | 1,8 | 2,2 | 2,7 |

## ZUSAMMENFASSUNG

1.) Eine Rhythmik des Sauerstoffverbrauchs von Kalanchoeblüten kann, auch nach Änderung des $O_2$-Partialdrucks und der Nährlösung, nicht festgestellt werden.

2.) Eine kurzzeitige Einwirkung von Natriumdiäthyldithiocarbaminat, Stickstoff, Naphthomycin und Patulin auf die Blüten ergibt eine geringe konstante Phasenverschiebung der Bewegungskurven. Die Phasenverschiebungen sind jedoch nach dem U-Test nicht signifikant ($\alpha = 0{,}05$).

3.) KCN wirkt auf die einzelnen Phasen der Blütenblattbewegungen verschieden stark verzögernd. Die Prüfung der KCN - Wirkung auf die Atmung von Kalanchoeblüten ergibt bei intakten Blüten eine Hemmwirkung von ca 30%, bei isolierten Mitochondrien eine Zunahme der Atmungsrate um das Vierfache.

4.) Deutung der Ergebnisse: Eine eindeutige Abhängigkeit der endogenen Rhythmik von der Atmungskette besteht nicht. Phasenspezifische Unterschiede in der Inhibitorwirkung (vgl. 3.) müssen in anderen Stoffwechselvorgängen gesucht werden. Umgekehrt muß auch ein Einfluß der circadianen Rhythmik auf die Atmung ($O_2$-Aufnahme) ausgeschlossen werden.

---

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. E. BÜNNING, danke ich sehr für die Anregung zu dieser Arbeit und für sein großzügiges Entgegenkommen, das die Durchführung ermöglichte. Den Kollegen und den Mitarbeitern des Instituts möchte ich für ihre Hilfsbereitschaft danken, besonders Herrn Dr. W. ENGELMANN für Diskussionen und für das Überlassen seiner Registrieranlage und Herrn W. MARX für die Hilfe beim Bau einer weiteren Registrieranlage.

LITERATUR

Aschoff,J., K.Klotter u. R.Wever: Circadianer Wortschatz. In: J.Aschoff (ed.), Circadian clocks. Amsterdam 1965.

Balerna,M.:Untersuchung eines neuartigen Antibiotikums (substituiertes Chinon?) auf Wuchsstoff- und Antiwuchsstoffeigenschaften bei Fusiformis nigrescens. Diplomarbeit Zürich 1968.

Baltes,J.: Der Einfluß verschiedener Substanzen auf die endogentagesperiodischen Blattbewegungen. Diss. Tübingen 1964.

Beevers,H.: Respiratory metabolism in plants. New York, Evanston and London 1961.

Bonner,W.D.,Jr.: Electron transport systems in plants. In: W.A. Jensen and L.G.Kavaljian (ed.), Plant biology today. 2nd Ed. London 1967.

Brinkmann,K.: Temperatureinflüsse auf die circadiane Rhythmik von Euglena gracilis bei Mixotrophie und Autotrophie. Planta (Berl.) 70, 344-389 (1966).

Brommer,B.: Untersuchungen zur endogenen Tagesperiodik von Phaseolus. Diplomarbeit Tübingen 1968.

Brown,F.A., J.Freeland, and C.Ralph: Persistent rhythms of $O_2$-consumption in potatoes, carrots and seaweed Fucus. Plant Physiol.30, 280-292 (1955).

Bühnemann,F.: Das endodiurnale System der Oedogoniumzelle II: Einfluß von Stoffwechselgiften und anderen Wirkstoffen. Biol.Zbl. 74, 691-705 (1955).

Bünning,E.:Über die Urethanvergiftung der endogenen Tagesrhythmik. Planta (Berl.) 48, 453-458 (1957).

- Endogene Rhythmik der Atmung. In: W.Ruhland (ed.), Handb. Pflanzenphysiol. Bd.XII/2, 594-604 (1960).
- The physiological clock. 2nd Ed. New York: Springer 1967.
- u. R.Zimmer: Zur Deutung der Phasenverschiebungen und "Transients" nach exogener Störung endogener Rhythmen. Planta (Berl.) 59, 1-14 (1962).
- , S.Kurras u. V.Vielhaben: Phasenverschiebungen der endogenen Tagesrhythmik durch Reduktion der Atmung. Planta (Berl.) 64, 291-300 (1965).

Bünsow,R.: Endogene Tagesrhythmik und Photoperiodismus bei Kalanchoe bloßfeldiana. Planta (Berl.) 42, 220-252 (1953).

Dixon,M. and E.Webb: Enzymes. 2nd Ed. London 1964.

Engelmann,W. u. V.Vielhaben: Wirkung verschiedener Zucker auf die Kalanchoe-Blütenblattbewegung. Z. Pflanzenphysiol. 55, 54-58 (1966).

- u. H.-W.Honegger: Versuche zur Phasenverschiebung endogener Rhythmen: Blütenblattbewegung von Kalanchoe bloßfeldiana. Z. Naturforsch. 22, 200-204 (1967).

Feldmann,J.F.: Lengthening the period of a biological clock in Euglena by cycloheximide, an inhibitor of protein synthesis. Proc.Nat.Acad.Sci. 57, 1080-1087 (1967).

Hastings,J.W.: Biochemical aspects of rhythms: phase shifting by chemicals. Cold Spr.Harb.Symp.quant.Biol. 25, 131-143 (1960).

Hochster,R.M. and J.H.Quastel (ed.): Metabolic inhibitors. New York, London: Acad.Press 1963.

Hock,B. and H.Beevers: Development and decline of the glyoxylate-cycle encymes in watermelon seedlings. Z.Pflanzenphysiol. 55, 405-414 (1966).

James,W.O.: The use of respiratory inhibitors. Ann.Rev.Plant Physiol. 4, 59-90 (1953).

- The terminal oxidases of plant respiration. Biol.Rev. Cambridge Phil.Sci. 28, 245-260 (1953).

Karakashian,W.M. and J.W.Hastings: The effects of inhibitors of macromolecular biosynthesis upon the persistend rhythm of luminescence in Gonyaulax. J.Gen.Physiol. 47, 1-12 (1963).

Karvé,A., W.Engelmann and G.Schoser: Initiation of rhythmical petal movements in Kalanchoe bloßfeldiana by transfer from continuous darkness to continuous light or vice versa. Planta (Berl.) 56, 700-711 (1961).

Keller,S.: Über die Wirkung chemischer Faktoren auf die tagesperiodischen Blattbewegungen von Phaseolus multiflorus. Z.Bot. 48, 32-57 (1960).

Kluge,M.: Untersuchungen über den Gasstoffwechsel von Bryophyllum während der Lichtperiode. Planta (Berl.) 80, 255-263 u. 359-377 (1968).

Lippe,T.zur: Wasseraufnahme und Blütenbewegung an Kalanchoeinflorescensen in verschiedenen Licht - Dunkelwechseln. Z.Bot. 45, 43-55 (1957).

Oltmanns,O.: Über den Einfluß der Temperatur auf die endogene Tagesrhythmik und die Blühinduktion bei der Kurztagspflanze Kalanchoe bloßfeldiana. Planta (Berl.) 54, 233-264 (1960).

Ranson,S.L. and M.Thomas: Crassulacean acid metabolism. Ann. Rev.Plant Physiol. 11, 81-110 (1960).

Singh,J.: Patulin. In: D.Gottlieb and P.Shaw (ed.); Antibiotics I: Mechanism of action. Berlin, Heidelberg, New York 1967.

Sachs,L.: Statistische Auswertungsmethoden. Berlin, Heidelberg, New York 1968.

Schmitz,J.: Über Beziehungen zwischen Blütenbildung in verschiedenen Licht - Dunkelkombinationen und Atemrhythmik bei wechselnden photoperiodischen Bedingungen. Planta (Berl.) 39, 271-308 (1951).

Schön,W.J.: Periodische Schwankungen der Photosynthese und Atmung bei Hydrodictyon. Flora (Jena) 142, 347-380 (1955).

Takatori,S.: Effects of some respiratory inhibitors on the different stages of the mitotic cycle of Vicia root tip cells. Cytologia 31, 220-236 (1966).

Umbreit,W., H.Burris and F.Stauffer: Manometric techniques and tissue metabolism. 7$^{th}$Ed. Minneapolis 1951.

Verleur,J.D.: Studies on the isolation of mitochondria from potato tuber tissue. Plant Physiol. 40, 1003-1007 (1965).

Wilkins,M.B.: An endogenous rhythm in the rate of carbon dioxid output of Bryophyllum. Planta (Berl.) 72, 66-77 (1967).

- and D.M.Warren: The influence of low partial pressures of oxigen on the rhythm in the groth rate of the Avena coleoptile. Planta (Berl.) 60, 261-273 (1963).

Wolf,H.: Die Reinigung und Charakterisierung zweier Chinon-Antibiotica aus Streptomyces collinus. Diplomarbeit Tübingen 1968.

Zimmer,R.: Phasenverschiebung und andere Störlichtwirkungen auf die endogen tagesperiodischen Blütenblattbewegungen von Kalanchoe bloßfeldiana. Planta (Berl.) 58, 283-300 (1962).

LEBENSLAUF

Am 13.11.1940 bin ich als Tochter von Rolf Steinheil und Charlotte Steinheil, geb. Bems, in Nürnberg geboren. Mein Vater, Oberleutnant der Luftwaffe, verunglückte im November 1941 auf einem Erkundungsflug tödlich.

Anläßlich der Bombenangriffe auf Nürnberg zogen meine Mutter, mein um ein Jahr jüngerer Bruder und ich nach Heidenheim. Dort besuchte ich die Freie Waldorfschule (1947-1960). Im Frühjahr 1962 beendete ich das viersemestrige Studium am Pädagogischen Institut in Stuttgart mit der ersten Prüfung für das Lehramt an Volksschulen. Nach 2 Jahren Lehrtätigkeit an der Mittelschule in Leinfelden (Krs.Böblingen) legte ich die zweite Prüfung für das Lehramt an Volksschulen ab (1964) und begann anschließend in Tübingen Biologie, Pädagogik und Philosophie zu studieren. Nach dem 3.Semester habe ich den Schwerpunkt des Studiums auf Biologie und Chemie verlegt und im 6. Semester in diesen beiden Fächern die Prüfung für Mittelschul- und Gymnasiallehrer (Fachgruppenprüfung) abgelegt.

Während der Schul- und Studienzeit verbrachte ich je 3 Monate in England und Frankreich.

Im Mai 1967 begann ich am Botanischen Institut der Universität Tübingen unter der Anleitung von Professor Dr.E.Bünning mit meiner Dissertation "Versuche zur Abhängigkeit der circadianen Rhythmik von der Atmungskettenenergie bei Kalanchoe bloßfeldiana". Die Arbeit wurde im April 1969 abgeschlossen.

Meine akademischen Lehrer waren:
In Biologie: E.Bünning, D.Dütting,A.Gierer,K.G.Grell,D.Hausen, K.Mägdefrau,H.Metzner,F.P.Möhres, G.Richter, H.Schneider,V.Schwartz,B.Schwemmle,W.Seyffert, H.Zähmer
In Chemie: A.Anderer,E.Bayer,W.Rüdorff,G.Weitzel
In Pädagogik und Philosophie: O.F.Bollnow,G.Dohmen, A.Flitner, W.Schulz.

Druckbüro Frau Elly HUTH, 74 Tübingen